

METODOLOGIA PARA MEDIR A RESISTÊNCIA AO CALOR

2º SEMINÁRIO DE TREINAMENTO

14/DEZEMBRO/1979

16:00 Horas.

Pierre Michel Saint-Clair

Consultor EMBRAPA/CPATSA.

Petrolina/Pernambuco



Metodologia para medir a

1979

FL 02751



34366-1

## INTRODUÇÃO

Depois de discutir no primeiro seminário, dos aspectos da técnica de germinação sob altas pressões osmóticas, se vai hoje abordar a metodologia para medir a resistência ao calor. Neste presente contexto se usa indiferentemente as palavras resistência e tolerância.

Se deve saber em primeiro lugar porque medir este parametro dentro de um programa de tolerância à seca. As razões são múltiplas.

De uma maneira geral não se estabelece diferenças entre tolerância à seca e tolerância ao calor; a seca anda frequentemente acompanhada com altas temperaturas (SULLIVAN, NORCIO and EASTIN, 1977). Vários autores admitiram a mesma opinião.

HEYNE and LAUDE, 1940

JULANDER, 1945

KALOYEREAS, 1958

HENCKEL, 1964

WILLIAMS et al, 1967

MISHRA et al, 1968

HENCKEL (1964), no entanto assinalou que os cactos, os quais são considerados por ILJIN (1957) como as mais termoresistentes entre as plantas floríferas, não aguentam a desidratação. SULLIVAN, NORCIO and EASTIN (1977) comentaram a superioridade do milho sobre o sorgo ao ponto de vista de termotolerância e as desvantagens do primeiro sobre o segundo no tocante à tolerância à seca. Pensaram que o milho foi selecionado por inadvertência no sentido da termoresistência, quer naturalmente, quer artificialmente. As folhas das plantas podem então tolerar altas temperaturas. Esta vantagem se perde por falta de mecanismo adequado de resistência ou de escapamento à dessecação. Se sabe que o milho, ao contrário do sorgo, fecha muito cedo suas estomas, perturbando assim o sistema de resfriamento hídrico.

Esses comentários não debilitam a ideia que a tolerância ao calor é uma propriedade muito útil no campo da tolerância à seca. Ela faz parte dos critérios que SULLIVAN (1971) considerou como importantes para avaliar a tolerância à seca. Se sabe além do mais que no caso do sistema de resfriamento hídrico já mencionado, existe uma relação direta entre a tolerancia (mais bem escapamento) ao calor e o fenômeno da seca.

Não se pode esquecer que num lugar dado é importante conhecer as propriedades das plantas, ou os fatores que influem mais sobre o rendimento sob as condições de seca. No caso do Nordeste é útil averiguar que importância pode ter a termoresistência.

A avaliação desta prioridade tem um histórico muito interessante. Não se precisa dar uma visão ampla de todas as metodologias que têm sido utilizadas até agora. Cabe no entanto dizer que as técnicas conservadoras usam plantas inteiras que são submetidas a temperaturas bastante altas num ambiente controlado. No caso do milho por exemplo, WILLIAMS et al (1967) colocaram plantas de 20 dias de idade numa câmara de crescimento mantida na temperatura de 52°C durante 6 horas. Depois do tratamento mudaram-se as plantas para outro ambiente com uma temperatura de 20°C. Depois de uma semana se avaliou a recuperação das mesmas. KILEH and ANDREW (1969) expuseram plantas crescidas, numa casa de vegetação, ao teste de "calor e seca atmosférica". Eles usaram para o tratamento uma câmara de vegetação (tipo "walk-in") aonde se manteve uma temperatura de 54,5°C e uma umidade relativa de 15-20% durante 5 horas. Depois do tratamento, se colocou outra vez as plantas na casa de vegetação, irrigou-as e avaliou-as cinco dias depois, em relação aos danos sofridos. Na revisão da leitura feita por WRIGHT and STREETMAN (1960), o tempo na exposição no tratamento pode durar até 24 horas.

Alguns científicos da Universidade de Lincoln-Nebraska (SULLIVAN et al, 1968) tiveram o mérito de desenvolver um método muito prático para avaliar a tolerância ao calor das plantas. Se trata do método dos discos foliares-condutividade elétrica, inspirado do trabalho de DEXTER et al, (1932) sobre a tolerância ao frio. Como pode se ver mais adiante, se usa discos foliares em vez de plantas inteiras, e se economiza muito tempo.

## II - MEDIÇÃO DE TOLERÂNCIA AO CALOR, SEGUNDO O MÉTODO DE DISCOS FOLIARES-CONDUTIVIDADE ELÉTRICA.

O método já está descrito em muitos trabalhos sobre cereais (SULLIVAN et al, 1968; SULLIVAN, 1972; SULLIVAN et al, 1973; e SAINT-CLAIR, 1979).

### Detalhes Experimentais

Retira-se com um furador, discos de 1 cm de diâmetro da segunda folha (desde o ápice) das plantas, à razão de 20 por folha e de 10 de cada lado da nervura principal. Os discos de um lado da folha, servirão como testemunha, os outros do outro lado, como tratamento. Usa-se plantas bastante



jovens ( $\pm$  40 dias). Coloca-se os discos em copos de becher contendo água deionizada. Por meio de uma pinça de pontas lisas, se transporta os discos dos copos para os tubos de ensaio contendo também água deionizada e levando a mesma identificação que os copos. Lava-se os discos com água deionizada, três vezes, num intervalo de 2 horas. Esta operação consiste em trocar de vez em quando a água dos tubos. Para evitar que os discos saiam dos tubos, se tapa os mesmos com um pedaço de tela de plástico com malhas.

No fim da operação se divide os tubos em dois grupos: Testemunhas e Tratamentos. Nesta fase sã ficam algumas gotas de água nos tubos.

Se coloca 30 ml. em cada testemunha e se deixa todos à temperatura do laboratório depois de fechã-las com papel transparente. Os tratamentos (fechados com o mesmo papel) sã levados a um banho-maria na temperatura de 48°C, durante uma hora. Depois de serem resfriados, se coloca também, nos mesmos, 30 ml. de água deionizada. Os dois grupos passam a noite num ambiente (camara de crescimento, por exemplo) mantido na temperatura de 10°C. No dia seguinte deixam-se todos os tubos em equilíbrio com a temperatura do laboratório, logo apõs se agita cada tubo com um agitador elêtrico e se mede de imediato a condutividade elêtrica do conteúdo, na temperatura de 25°C. Os conductímetros digitais sã os recomendados para esta medição.

Se mata em seguida os discos, colocando todos os tubos num banho-maria mantido à temperatura de 85°C, durante 20-25 minutos. Depois de serem resfriados se mede a condutividade elêtrica nas mesmas condições jã mencionadas.

Se calcula a percentagem de danos sofridos para os discos, da seguinte maneira (SAINT-CLAIR, 1979).

Seja: Testemunha  $T^0 = 3,35$  micromhos/cm

Testemunha matada  $T^0_t = 57,00$  micromhos/cm

Tratamento  $T = 26,18$

Tratamento matado  $T_t = 47,45$

Calculos:

$$\frac{T^0}{T^0_t} = \frac{3,35}{57,00} = 5,88\%; 100\% - 5,88\% = 94,12\% \text{ intacto}$$

$$\frac{T}{T_t} = \frac{26,18}{47,45} = 55,17\%; 100\% - 55,17\% = 44,83 \text{ intacto}$$

$$\frac{44,83}{94,12} = 47,63\% \text{ intacto; } 100\% - 47,63\% = 52,37 \text{ de danos.}$$

O método tal como descrito é uma informação geral. Pode-se modificar por exemplo a idade das plantas, o número e o diâmetro dos discos, a temperatura e a duração do tratamento. Pode-se escolher o número de repetições e o delineamento que se julga úteis. SULLIVAN (1972) fez 242 testes com o sorgo granífero. Ele dividiu o material vegetal "arbitrariamente" em 3 categorias segundo a temperatura que causa 50% de danos: muito tolerante ( $49^{\circ}\text{C}$  ou mais), Moderadamente tolerante ( $47-48, 9^{\circ}\text{C}$ ) e Fraco ( $46, 9^{\circ}\text{C}$  ou menos). O mesmo autor usa o tratamento  $48^{\circ}\text{C} \times 1 \text{ h.}$  ou  $15 \text{ minutos} \times 50 - 55^{\circ}\text{C}$  (SULLIVAN, 1972 ; SULLIVAN, não publicado, 1977). Na figura 1 ele deu um exemplo de gráfico associando porcentagem de danos a temperatura.

### III - PROBLEMAS ASSOCIADOS À MEDIÇÃO DA TOLERÂNCIA AO CALOR

Sabe-se que para avaliar uma propriedade ou um parametro dado das plantas, deve-se evitar as interações de outros fatores. Por isso recomenda-se o uso de uma meio completamente controlada para fazer crescer as plantas cuja tolerância ao calor precisa-se avaliar. Em condições de campo os fatores ambientais (ventos seco, variações de temperatura, insetos, pragas, etc.) podem influir sobre o comportamento das plantas submetidas ao teste de calor. -Apesar destas dificuldades, cabe dizer que é importante medir a tolerância ao calor das plantas expostas às condições em que os agricultores costumam fazê-las crescer. SULLIVAN (Comunicação Pessoal) trabalhou com plantas crescidas em camaras de vegetação e no campo.

O problema no entanto não é simples, pois que, nas condições de campo pode acontecer fenomenos de endurecimento das plantas; o grau de expressão do mesmo, podendo variar de um cultivar a outro, dentro da mesma cultura. Além disso SULLIVAN (1972) mencionou a possibilidade de um aumento da tolerância ao calor com a idade das plantas. Em condições de casa de vegetação (ambiente incompletamente controlado) SAINT-CLAIR (1979) encontrou variações na tolerância, devidas à idade (Vide quadro 1.). As plantas estudadas têm sido talvez endurecidas, isso explicaria a temperatura relativamente alta do tratamento.

De toda maneira as relações entre a tolerância ao calor e rendimento devem refletir o grau de importância desta propriedade, numa região dada.

SULLIVAN (não publicado, 1977) mostrou (Vide figura 2.) como a tolerância ao calor, de híbridos de sorgo M 35-1 está relacionada com o rendimento. O valor do coeficiente de correlação, correspondente e comparável ao valor do coeficiente associando a resistência foliar e temperatura foliar (Fig.3).

#### IV - EXPERIMENTOS PROJETADOS NO CPATSA

Em 1980 se projeta executar testes de calor com culturas puras e consorciadas. Usando por exemplo dois cultivares de milho e dois de caupi, sendo o consorcio milho-caupi, muito popular, se pode medir a tolerância ao calor das plantas, nos casos seguintes:

1. MILHO A
2. MILHO B
3. CAUPI A
4. CAUPI B
5. MILHO A quando consorciado com CAUPI A
6. CAUPI A quando consorciado com MILHO A
7. MILHO A quando consorciado com CAUPI B
8. CAUPI B quando consorciado com MILHO A
9. MILHO B quando consorciado com CAUPI A
10. CAUPI A quando consorciado com MILHO B
11. MILHO B quando consorciado com CAUPI B
12. CAUPI B quando consorciado com MILHO B

Devido ao tamanho dos trabalho (12 casos x n repetições de testemunhas e de tratamentos) e os problemas técnicos que podem ainda não serem resolvidos, se deverá provavelmente fazer dois experimentos em vez de um, medindo a tolerância nos seguintes casos:

##### EXPERIMENTO I

MILHO A

MILHO B

CAUPI (A)

MILHO A quando consorciado com CAUPI (A)

CAUPI (A) quando consorciado com MILHO A

MILHO B quando consorciado com CAUPI (A)

CAUPI (A) quando consorciado com MILHO B

##### EXPERIMENTO II

MILHO A

MILHO B

CAUPI(B)

MILHO A quando consorciado com CAUPI(B)

CAUPI (B) quando consorciado com MILHO A

MILHO B quando consorciado com CAUPI (B)

CAUPI(B)quando consorciado com MILHO (B)



Vale a pena fazer dois testes por cada experimento: um teste na idade de 35-40 dia aproximadamente e outro na fase de floração.

## V - CONCLUSÕES

Com os testes de calor que se projeta fazer com as culturas mais importantes do Nordeste se poderá comparar cultivares duma mesma cultura e também as culturas mais importantes do Nordeste. Além disso os resultados serão obtidos sob condições de consórcio permitindo a determinação da influência desse sistema sobre as respostas das culturas envolvidas. Se poderá também determinar a importância da tolerância ao calor no mecanismo geral de tolerância à seca das culturas. No caso do sorgo e do senegal (SAINT-CLAIR, 1979) se observou, que os cultivares que germinaram bem sob altas pressões osmóticas têm em geral boa tolerância ao calor mesmo que não tenha a mesma ordem de tolerância sob ambos os casos. Cabe dizer no entanto que no caso específico de dois cultivares, 7531-V15 et 7410 KHONE, não foi a resposta ao calor que explicou a maior tolerância à seca do primeiro sobre o segundo, mas sim o melhor comportamento desse durante os testes de germinação sob altas pressões osmóticas.

## VI - DEMONSTRAÇÕES DE TESTES DE CALOR COM:

1. Plantas de milho
2. Furador
3. Afiador do furador
4. Tampa de borracha
5. Copos de bocher, devidamente identificados
6. Tubos de ensaio, devidamente identificados
7. Tela plástica com malha
8. Papel transparente
9. Banho-maria (para dar tratamento de calor e para matar os discos)
10. Termostato
11. Termometro de precisão
12. Colara immersion cooler ( $10^{\circ}\text{C}$ ) ?
13. Conductímetro ?
14. Agitador elétrico
15. Formulário para escrever dados.

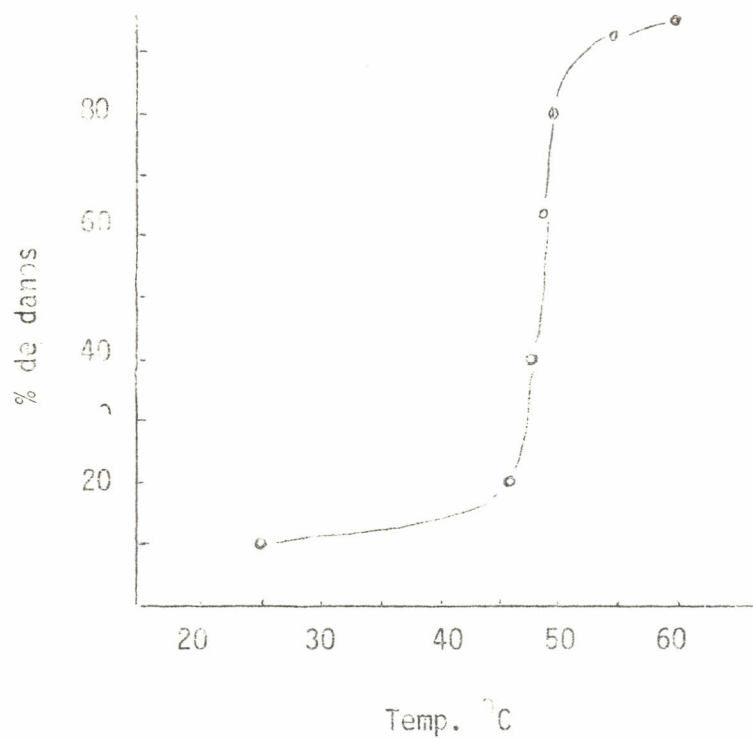
## REFERÊNCIAS

1. DEXTER, S.T., W.E. TOTTINGHAM and L.F. GRABER, 1932. Investigations of the hardness of plant by measurement of electrical conductivity. *Pl. Physiol.* 7:63-68.
2. HENCKEL, P.A. 1964. Physiology of plant under drought. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 15:363-386.
3. HEYNE, E. and H. LAUDE, 1940. Resistance of corn seedlings to high temperatures in laboratory tests. *J. Amer. Soc. Agron.* 32: 116-126.
4. ILJIN, W. 1957. Drought resistance in plants and physiological processes. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 8: 257-274.
5. JULANDER, O. 1945. Drought resistance in range and pasture grasses. *Plant Physiol.* 20: 573-599.
6. KALOYEREAS, S.A. 1958. A new method of determining drought resistance. *Plant. Physiol.* 33: 232-233
7. KILEN, T. and R. ANDREW, 1969. Measurement of drought resistance in corn. *Agron. J.* 61(5): 669-672.
8. MISHRA, D.; R. PRASAD and S. BHAN. 1968. Reclamation of the Rajputana desert. *World Crops*: 18-24.
9. SAINT-CLAIR, P.M. 1979. Etude de quelques aspects de la résistance à la sécheresse du sorgho grain. *Turrialba* 29(2): 139-146.
10. SULLIVAN, C.Y. 1971. Techniques for measuring plant drought stress. In *Drought injury and resistance in crops*. CSSA special publication nº 2. Crop Science Society of America. pp. 1-18.
11. SULLIVAN, C.Y. 1972. Mechanisms of heat and drought resistance in grain sorghum and methods of measurement. In *Sorghum in seventies*. Editors RAO and HOUSE. Oxford Publishing Co. New Delhi pp. 217-264
12. SULLIVAN, C.Y., J. EASTIN and E. KINBACHER, 1968. Finding the key to heat and drought resistance in grain sorghum. *Qat. Univ. Neb. Lincoln Summer Issue*.
13. SULLIVAN, C.Y., et al. 1973. Physiological selections for drought resistance in sorghum. In *Research in the physiology of yield and management of sorghum in relation to genetic improvement*. University of Nebraska Annual Report. 7: 1973. 167 p.



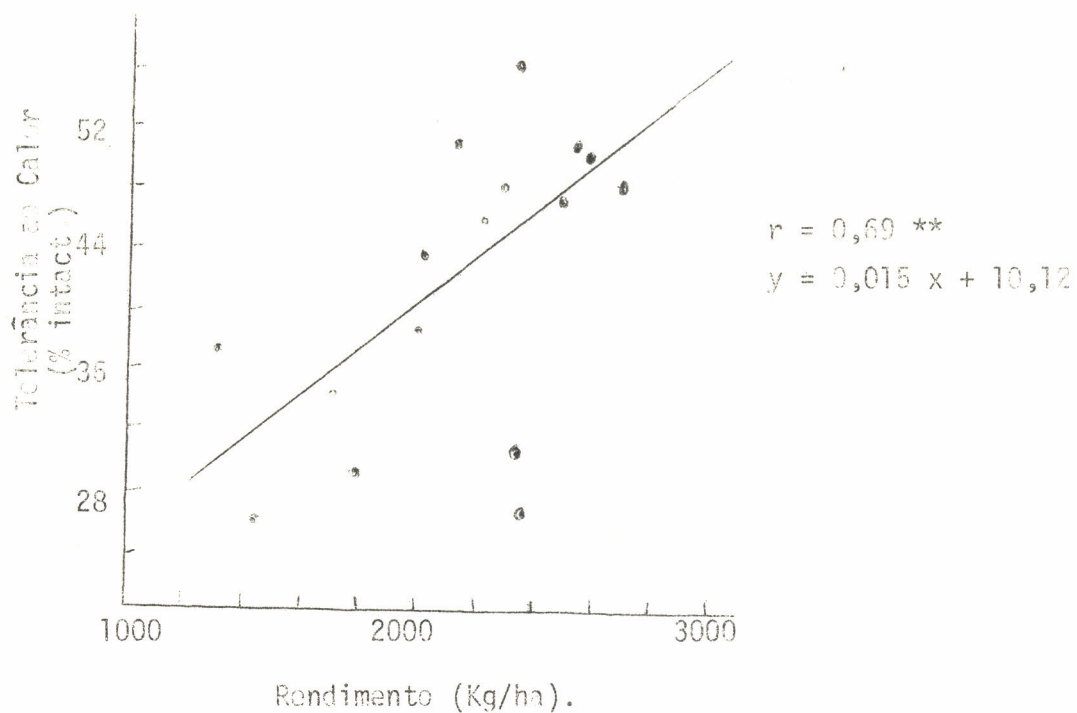
14. SULLIVAN, C.Y., H.V. MORCIO and J.D. EASTIN, 1977. Plant responses to high temperatures. Proceedings of International Symposium on genetic diversity in plants, Lahore, Pakistan, 1976, in Press.
15. WILLIAMS, T.; R. SNELL and J. ELLIS. 1967. Methods of measuring drought tolerance in corn. Crop Science 7: 179-182.
16. WRIGHT, N. and L. STREETHAN. 1960. Grass improvement for the Southwest relative to drought evaluation. Tucson. Agricultural Experiment Station, University of Arizona. Technical Bulletin 143. 16 p.

FIGURA 1.



Um exemplo de relação entre a temperatura e tolerância ao calor, segundo o método de discos foliares-condutividade elétrica (SULLIVAN, 1972).

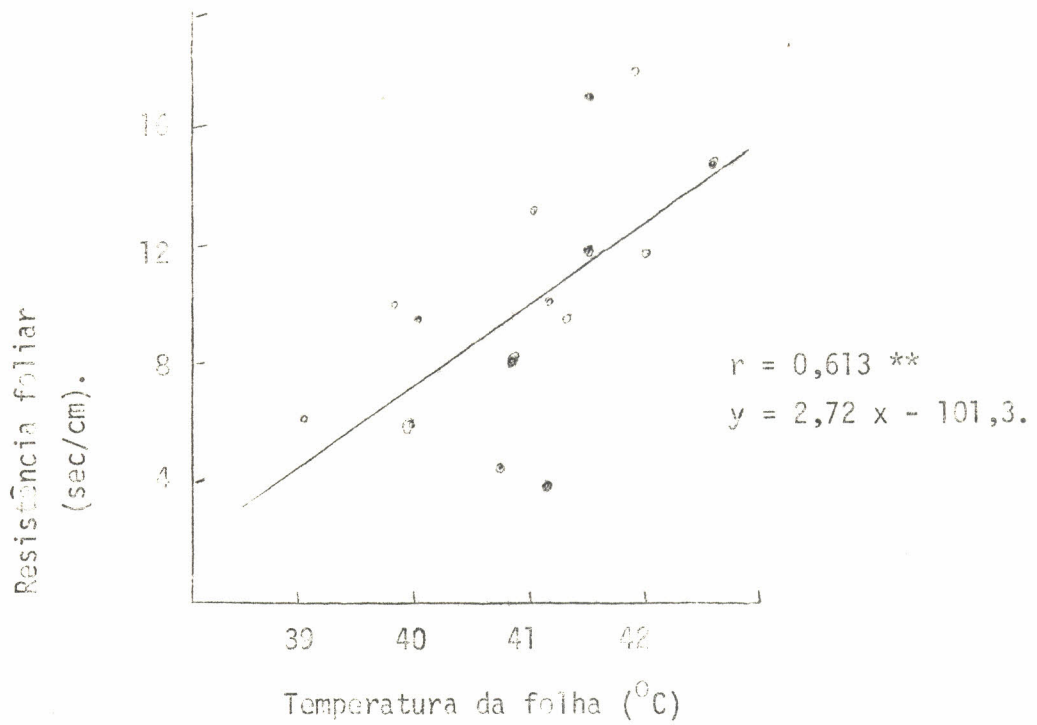
FIGURA 2.



Relação entre tolerância à seca e rendimento de 15 híbridos (retrocruzamento de conversão) determinada durante um período de "stress" máximo em agosto, no Laboratório do Campo da Universidade de Nebraska, Mead, Nebraska, (SULLIVAN, 1977, não publicado).



FIGURA 3.



Relações entre temperatura de folha e resistência (ã difusão) foliar (SULLIVAN, 1977, Não publicado).

QUADRO 1.

Resistência ao calor de 8 cultivares de sorgo granífero de ciclo variável à 40, 54 e 68 dias, depois do plantio; tratamentos 1 h. x 51,50°C (SAINT-VLAIR, 1979).

Cultivares	Ciclo (dias)	% de danos causados aos discos foliares médias dos testes.			
		Idade (dias)			
		40	54	68	Média
CE-90	100	56,7 b*	38,7 ab	48,3 ab	47,9 ab
7410 KHONE	110	48,0 ab	47,3 ab	47,4 ab	47,5 ab
7531 - V15	110	42,2 ab	53,9 b	41,0 ab	45,7 ab
51 - 69AT	135	34,9 a	31,1 a	33,6 a	36,5 a
60-20	100	5,1 ab	51,3 b	35,4 a	45,9 ab
MN 1056	120	48,6 a	56,5 b	48,2 a	51,1 b
954063	90	39,9 a	50,8 ab	55,8 b	48,8 a
Média	108,1	49,9 A**	50,8 A	45,6 A	48,7 A

\* Os valores seguidos da mesma letra minúscula não são significativamente diferentes ( $P = 0,05$ ), teste múltiplo de Duncan.

\*\* Os valores seguidos da mesma letra maiúscula não são significativamente diferentes ( $P = 0,05$ ), teste múltiplo de Duncan.